

INJECTION DILUTION APPARATUS FOR SAMPLE

Publication number: JP58113760 (A)

Publication date: 1983-07-06

Inventor(s): NAKAJIMA SATOSHI; TAKIZAWA KOUICHI; SHIRAKAWA YOSHITAKA; ARAI MASATO +

Applicant(s): OMRON TATEISI ELECTRONICS CO +

Classification:

- **international:** G01N1/38; G01N35/08; G01N35/10; G01N1/38; G01N35/08; G01N35/10; (IPC1-7): G01N35/06

- **European:** G01N1/38

Application number: JP19810215193 19811226

Priority number(s): JP19810215193 19811226

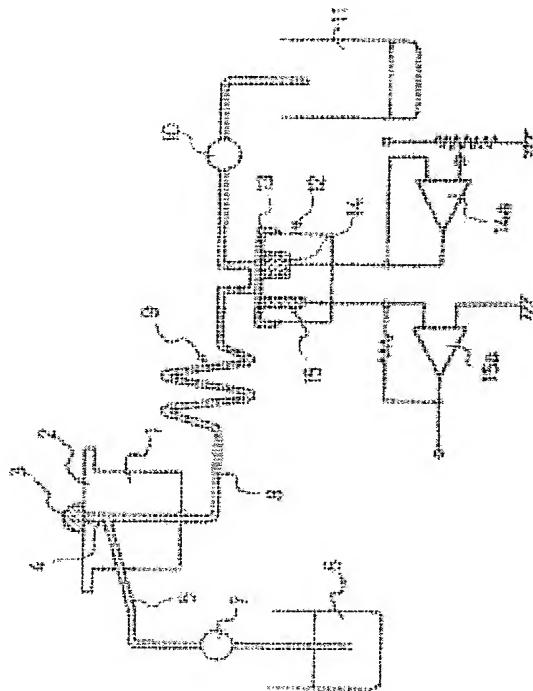
Also published as:

JP3026349 (B)

JP1664457 (C)

Abstract of JP 58113760 (A)

PURPOSE: To make injection and dilution of a sample highly accurately with a simple construction, by keeping constant a ratio of each suction quantity of plural pumps. **CONSTITUTION:** A sample 3 is placed on a sample table 2 of an injection and dilution vessel 1 and the sample 3 is kept in a fixed shape by its surface tension. A fixed flow rate B is kept in an outflow passage 8 in accordance with drive of a pump 10 and a fixed quantity A of a buffer solution 6 is flowed in an inflow passage 5 by a pump 7. Accordingly, the sample 3 on the table 2 is flowed into an inflow passage 4 only the difference (B-A) between the suction quantity B by the pump 10 and that of A by the pump 7. Therefore, diluted sample solution having a dilution ratio expressed by (B-A)/B is obtained in the passage 8.



Data supplied from the **espacenet** database — Worldwide

⑯ 日本国特許庁 (JP) ⑯ 特許出願公開
⑯ 公開特許公報 (A) 昭58—113760

⑯ Int. Cl.³
G 01 N 35/06

識別記号 行内整理番号
6430—2G

⑯ 公開 昭和58年(1983)7月6日

発明の数 1
審査請求 未請求

(全 5 頁)

⑯ 試料の注入希釈装置

⑯ 特 願 昭56—215193

⑯ 出 願 昭56(1981)12月26日

⑯ 発明者 中嶋聰

京都市右京区花園中御門町3番
地株式会社立石ライフサイエン
ス研究所内

⑯ 発明者 滝沢耕一

京都市右京区花園中御門町3番
地株式会社立石ライフサイエン
ス研究所内

⑯ 発明者 白川義貴

京都市右京区花園中御門町3番
地株式会社立石ライフサイエン
ス研究所内

⑯ 発明者 荒井真人

京都市右京区花園中御門町3番
地株式会社立石ライフサイエン
ス研究所内

⑯ 出願人 立石電機株式会社

京都市右京区花園土堂町10番地

⑯ 代理人 弁理士 深見久郎 外2名

明細書

1. 発明の名称

試料の注入希釈装置

2. 特許請求の範囲

(1) 水平部分を有しそこに試料を置くことができる試料載置部、

前記試料載置部の前記水平部分に連通してそこに置かれた試料を導入する第1流入路、

希釈用の緩衝液に連通して前記第1流入路に合流する第2流入路、

前記第1および第2流入路の合流点から延びる流出路、

前記第2流入路の途中に設けられて前記緩衝液を或る量(A)だけ吸引する第1ポンプ、および前記流出路の途中に設けられて前記或る量(A)より所定量だけ多い或る量(B)だけ吸引することができる第2ポンプを備え、

前記第2ポンプの吸引に応じて前記第1流入路から前記所定量(B-A)の試料が注入され、それによって前記流出路には(B-A)/Bに希釈

された試料が得られる、試料の注入希釈装置。

(2) 前記第1および第2ポンプは共通のモータによって駆動され、

前記第1および第2ポンプは一定の比率でそれぞれ緩衝液および希釈された試料を吸引する、特許請求の範囲第1項記載の試料の注入希釈装置。

(3) 前記第1ポンプは、その中を試料が通る第1の可撓性チューブと、前記共通のモータによって回転駆動されてその回転に応じて前記第1の可撓性チューブを一定長さごとにしごくための第1のしごきローラとを含み、

前記第2ポンプは、その中を希釈された試料が通る第2の可撓性チューブと、前記共通のモータによって回転駆動されてその回転に応じて前記第2の可撓性チューブを一定長さごとにしごくための第2のしごきローラとを含む、特許請求の範囲第2項記載の試料の注入希釈装置。

(4) 前記第1および第2ポンプは、それぞれ異なるモータによって回転駆動され、それによって前記第1および第2ポンプが一定の比率でそ

れぞれ緩衝液および希釈された試料を吸引する、特許請求の範囲第2項記載の試料の注入希釈装置。

(5) 前記流出路に設けられ、この流出路に導かれる前記希釈された試料に含まれる特定の成分の濃度を測定するための測定手段を含む、特許請求の範囲第1項ないし第4項のいずれかに記載の試料の注入希釈装置。

(6) 前記測定手段は

前記希釈された試料に含まれる特定の成分に特異的に反応する酵素が固定化された固定化酵素膜、および

前記酵素と前記特定の成分との反応に應応するポーラルグラフ電極を含む、特許請求の範囲第5項記載の試料の注入希釈装置。

3. 発明の詳細な説明

この発明は試料の注入希釈装置に関するもので、より特異的には簡易な生化学分析器に用いられる試料の注入希釈装置に関するものである。

現在多くの生化学分析器が市販されているが、それらにおいては、試料の希釈を必要とする場合

が多い。たとえば血液分析を行なう分析器については、かならず希釈が必要であろう。分析測定部分にセルを用いる分析器にあっては、予め定量された緩衝液の入ったセル中に、正確に定量された数量の試料を注入して希釈を行なう。このような場合定量されるべき試料の量は数10μlと極めて微量であるため、高価な専用の定量器を用意する必要がある。また、ポンプを用いて一定量の試料を定量しつつさらに緩衝液を合流させて希釈する分析器にあっては、非常に精度のよいポンプを使用する必要がある。ポンプの吸引量かつしたがって吐出量が数100μl程度であれば、安価なもので、正確な定量が可能である。しかしながら、上記のような微量な試料を精度よく定量できるポンプは非常に高価であった。したがって、従来いすれの方法を用いるにしても、簡易的に分析を行なう場合は、試料の注入希釈のための手段が高価になってしまい、全体として分析器を高価にしていた。

そこで、この発明は、試料の正確な注入希釈が

より簡易に行なえる、注入希釈装置を提供する。

この発明は、簡単に言えば、試料に連通する第1流入路と緩衝液に連通する第2流入路とが合流してそこから流出路が延び、第2流入路に一定量(A)だけ吸引し得る第1ポンプを設け、流出路に一定量(B)；(B>A)だけ吸引し得る第2のポンプを設け、第2のポンプの吸引に応じて第2流入路から所定量(B-A)の試料が注入され、流出路には(B-A)/Bに希釈された試料が得られるようにした、試料の注入希釈装置である。

この発明の上述の目的およびその他の目的と特徴は図面を参照して行なう以下の詳細な説明から一層明らかとなろう。

第1図はこの発明の一実施例を示すダイヤグラムである。注入希釈器1は、水平部分を有しそこに試料を置くことができる試料テーブル2を有する。試料テーブル2には試料3が載置され、その試料テーブル2上に載置された試料3に連通して第1流入路4が形成される。この第1流入路4には第2流入路5が合流される。第2流入路5の他

端は希釈用の緩衝液6に連通する。第2流入路5の途中には一定量(A)だけ緩衝液6を吸引し得る第1ポンプ7が設けられる。第1流入路4と第2流入路5との合流点から流出路8が延び、この流出路8の途中には攪拌部9が形成される。この攪拌部9を経た流出路8には、さらに、第2ポンプ10が設けられ、この第2ポンプ10は一定量(B)の容量を有する。ここで、第2ポンプ10の吸引量Bは第1ポンプ7の吸引量Aに比べて大きく選ばれていて、その差(B-A)が注入すべき試料の量に選ばれている。流出路8の他端は排水器11にもたらされる。

流出路8には、測定手段の一例としての酵素電極12が設けられる。この酵素電極12は流出路8を通る溶液に接触し得る固定化酵素膜13を有する。この固定化酵素膜13には、流出路8を通る溶液中に含まれる特定の成分ないし基質に特異的に反応し得る酵素が固定化されている。固定化酵素膜13には、その酵素の反応に伴う物質をアンペロメトリックに検出し得るポーラログラフ電

極が適切に設けられる。ポーラログラフ電極は参照電極 14 と作用電極 15 を含む。参照電極 14 と作用電極 15 の間に、定電圧回路 14a によって、一定のポーラログラフィ電位が印加される。作用電極 15 には電流-電圧変換回路 15a が接続され、この作用電極 15 に流れる信号電流が電圧に変換される。なお、これら酵素電極 12 の作用については後に詳細に説明する。

以上のような構成において、注入希釈器 1 の試料テーブル 2 には、試料 3 が載置される。試料 3 はその表面張力によって、図示のように一定の形状で保持される。第 1 および第 2 ポンプ 7 および 10 が駆動される。第 2 ポンプ 10 の駆動に応じて、流出路 8 は、一定の流量 (B) を有することになる。一方、第 2 流入路 5 には、第 1 ポンプ 7 によって、一定量 (A) の緩衝液 6 が流入する。したがって、第 2 ポンプ 10 の吸引量 B と第 1 ポンプ 7 の吸引量 A との差 (B - A) だけ、試料テーブル 2 上に載置された試料 3 が第 1 流入路 4 に充入することになる。したがって、流出路 8 には、

(B - A) / B で表わされる希釈比率を有する、希釈された試料溶液が得られる。このような試料の量 (B - A) は、たとえば酵素電極 12 による分析に必要な時間期間だけ溶液がその部分を連続的に流れ得る量が確保されるべきであり、たとえば少なくとも数 10 ミリが必要であろう。しかしながら、試料の量はそれ以上であっても、結果的に (B - A) / B が一定であり、したがって希釈比率が変動することもなく、分析測定に影響を与えることはない。

試料テーブル 2 上の試料 3 が、注入されてしまつて、試料テーブル 2 からなくなれば、次の試料を単に試料テーブル 2 上に載置するだけで、上述のような注入希釈動作が繰り返される。試料テーブル 2 上の試料がなくなれば、流出路 8 には緩衝液とともに気泡が含まれることになるが、このことによっては測定手段たとえば酵素電極 12 に何の影響も及ぼされない。むしろそのような気泡が酵素電極の洗浄効果を有することがわかった。したがって、試料テーブル 2 上への試料 3 の供給な

いし装置のタイミングは全く自由であり、したがって任意の時間に分析測定を行なうことができる。

上述のように、この実施例では第 2 ポンプによる吸引量 (B) と第 1 ポンプ 7 による吸引量 (A) とが常に一定比率 (B - A) / B になるようにしている。そのようにするために、たとえば第 2 図に示すようなポンプが用いられ得る。第 1 ポンプ 7 および第 2 ポンプ 10 は、共通のインダクションモータ 16 によって回転駆動される。すなわち、共通のインダクションモータ 16 の出力軸 17 には、2組の2枚の円板が一体的に回転し得るように固定される。それぞれの組の円板間に、複数のしごきローラ 18 および 19 が等間隔で設けられる。そして、これらしごきローラには、それぞれ、可撓性チューブたとえばシリコンチューブ 5a および 8a が巻回される。なお、チューブ 5a および 8a は、ここでは、同じ内径を有するものとした。したがって、2つのポンプ 7 および 10 の流量の比率は、半径 r 1 および r 2 (第 2 図) によって決定される。そこで、このようない

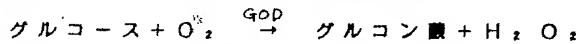
ごき半径 r 1 および r 2 を適当に設定することによって、異なる流量のかつ一定の流量比の2つのポンプが簡単に得られる。したがって、この第 2 図の例では、駆動用のモータが1つでよいという利点の他、さらに、モータ 16 の回転数に変動が生じても、2つのポンプ 7 および 10 の流量は変化するが、その流量の比率は変化しないので、結果として希釈比率もまた変動しないという利点がある。或る時間期間に第 1 ポンプ 7 にたとえば 190 ミリが流れ、第 2 ポンプ 10 にたとえば 200 ミリが流れたとすると、流出路 8 には (B - A) / B すなわち (200 - 190) / 200 = 20 倍の希釈溶液が得られる。モータ 16 の回転数が 10 % 上昇して、別の時間期間に第 2 ポンプ 7 にたとえば 209 ミリ流れ、第 2 ポンプ 10 にたとえば 220 ミリ流れたとしても、希釈比率は (220 - 209) / 220 = 20 となり、モータ 16 の回転数の変動にかかわらず希釈比率が一定であることがわかる。或る実験では、チューブ 5a および 8a として、内径 0.5 ミリ、外径 1.0 ミリ

のシリコンチューブを用い、しごき半径r2を1.8cmとし、一方のしごき半径r1を2.0cmとした。なお、各ポンプ7および10に、それぞれ別のモータたとえばパルスモータを用いても常に一定比率の吸込量を得ることができるが、この第2回実施例によれば、安価なインダクションモータで同じ効果を得ることができる。

実験では、第1回システムを用いて、ラットの血液分析を行なった。すなわち、ラット血液を用いて、約20倍の希釈を行なった血液をグルコースの定量を行なう酵素電極12に送り、このラットの血液に含まれる血中グルコース濃度（血糖値）の測定を行なった。試料すなわちラット血液3は、試料テーブル2上に約20mm、この試料テーブル2のほぼ中心にある第1流入路4を塞ぐように供給して放置した。約1分間ラット血液3が試料テーブル2上にあった。その間ラット血液3は第1流入路4を通じて定量ずつ吸引されかつ希釈され、一定の割合で減少していった。グルコースを検知するための酵素電極12の応答に必要な時間

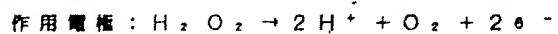
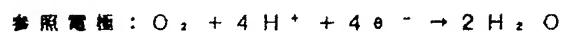
は約30秒であったので、試料のラット血液は最低10mm2載置しなければならないことがわかる。なお、第1ポンプ7を通して供給された希釈用の緩衝液は1時間あたり約20ccであった。試料が血液のように残留しやすい場合、この試料による第1流入路4の閉鎖を防止しかつまた試料のきれをよくするために、第1流入路4の長さを1.5mmになるようにしたが、結果は良好であった。希釈されたラット血液は、第2ポンプ10の吸引力によって、攪拌部9を通過した後、酵素電極12に供給される。希釈されかつ攪拌されたラット血液は、グルコース酸化酵素（GOD）を固定化した固定化酵素膜13に接触しながら流れた後に、ポンプ10を通過して排水器11に排水される。

酵素GODは、基質であるグルコースがラット血液中に存在すれば次式の酵素反応を行なう。



酵素GODはラット血液中のグルコース以外の基質とは全く反応しない非常に高い基質特異性を有しているので、この酵素反応に伴って消費される

酵素または生成される過酸化水素の量は、基質グルコースの濃度に比例する。そこで、GOD固定化酵素膜13をポーラログラフ電極14、15の表面に接着して、酵素反応に伴って電極表面から拡散する酵素の減少または電極表面へ拡散していく過酸化水素の増加をポーラログラフ電極14、15で測定することによって、ラット血液中に含まれるグルコース濃度を知ることができる。実験ではポーラログラフ電極14、15としては過酸化水素の増加を測定した。そのために、参照電極14は銀電極とし、作用電極15は白金とした。定電圧回路14aによって、銀参照電極14に対して白金作用電極15に+0.7Vの直流ポーラログラフィ電位を印加した。また、固定化酵素膜13には、アセチルセルロースまたはポリカーボネートの薄膜にグルタルアルデヒドを用いた架橋固定化法によって酵素GODを固定化した。参照電極14および作用電極15のそれぞれの電極表面におけるポーラログラフ反応は次式で表わされる。



電流-電圧変換回路15aによって、作用電極15に流れる信号電流に比例した電圧を検出する。したがって、この回路15aからの電圧は溶液すなわちラット血液に含まれる基質すなわちグルコースの濃度に比例したものとして得られる。したがって、このような電圧出力をレコーダ（図示せず）に記録すれば、このようなグルコース濃度が検出され得る。第3図はレコーダによって記録された実験結果の一例であり、同一のラット血液を3度測定したもので、その濃度ほぼ同一の出力電圧が得られている。

なお、上述の実施例では、流出路8において第2ポンプ10の前段に測定手段を配置した。しかしながら、これは第2ポンプ10の後段に配置されてもよいことはもちろんである。

また、測定手段は、実施例で用いた酵素電極以外に種々の成分分析ないし測定器を用いることができる。

以上のように、この発明によれば、簡単な構成によって、試料が精度よく注入希釈される。流量が小さくかつ精度のよいポンプを用いなくてもよいので、そのような注入希釈装置が一層安価に得られる。

4. 図面の簡単な説明

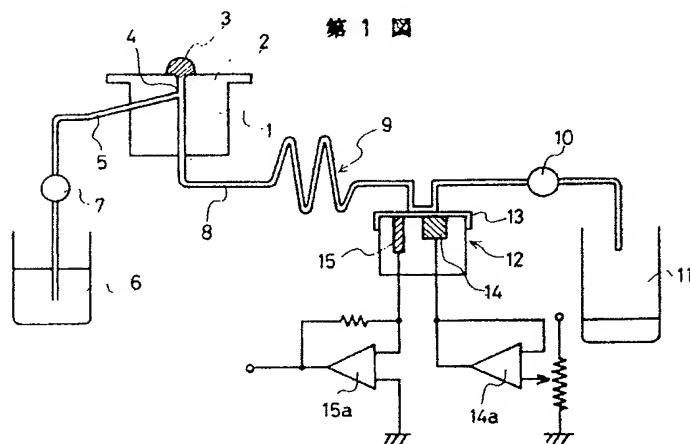
第1図はこの発明の一実施例のシステムを示すダイヤグラムである。第2図は第1図実施例に用いられるポンプの一例を示す回路図である。第3図は第1図実施例を用いた実験結果の一例を示すボーラログラムである。

図において、1は注入希釈器、2は試料テーブル、3は試料、4は第1流入路、5は第2流入路、6は緩衝液、7は第1ポンプ、8は流出路、10は第2ポンプ、12は酵素電極を示す。

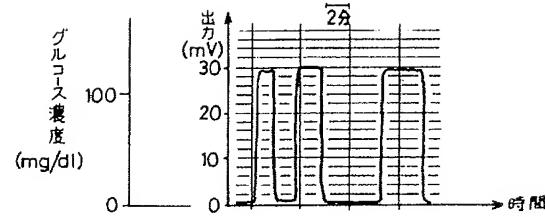
特許出願人 立石電機株式会社

代理人 弁理士 深見久郎
(ほか2名)

第 1 図



第 3 図



第 2 図

